

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problems Mailbox.**

Zyotrope preps for the treatment of cancer

Patent Assignee: (THE /) THEURER K

Number of Patents: 001

Patent Family:

CC Number	Kind	Date	Week
DE 1814134	A	000000	7037 (Basic)

Priority Data (CC No Date): DE 1814134 (681212)

Abstract (Basic): Zyotrope preparations are used for the treatment of cancer and related illnesses, particularly mobile cancer cells.

9

Int. Cl.: A 61 k

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



10

Deutsche Kl.: 30 h. 2/04

cited in the examination
proceedings of EP 88 10 4964.7
Your Ref.: Enz-5, (EPO) Div. II

1
8
17

16

Offenlegungsschrift 1814 134

11

Aktenzeichen: P 18 14 134.9

20

Anmeldetag: 12. Dezember 1968

22

Offenlegungstag: 10. September 1970

23

Ausstellungspriorität: —

24

Unionspriorität

25

Datum: —

26

Land: —

27

Aktenzeichen: —

28

Bezeichnung: Zusatzverfahren zur Herstellung von Arzneimitteln mit selektivem Tropismus

31

Zusatz zu: 1 617 886

32

Ausscheidung aus: —

33

Anmelder: Theurer, Dr. med. Karl, 71000 Stuttgart

Vertreter: —

34

Als Erfinder benannt: Erfinder ist der Anmelder

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): —

Patentanspruch

2

Zusätzliches Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln mit selektivem Tropismus gegen Krebs und/bzw. bestimmte Organe nach Patent (-Anmeldung T 33 356 IV a/30 h), bei welchem an die nach bekannten immunologischen, chemischen oder fermentchemischen Verfahren gewonnenen Antikörperfragmente mit erhaltenem Tropismus zu den jeweiligen Gewebs- bzw. Zellantigenen nach ebenfalls bekanntem

Verfahren pharmakologisch oder als radioaktiv Markierungs-
substanz wirkend Molekül chemisch und/oder adsorptiv angeschlossen
werden, dadurch gekennzeichnet, daß zytotrope, gegen mobile Zellen,
deren molekulare Bestandteile aus Geweben oder Körperflüssigkeiten
oder gegen interstitielle oder humorale physiologische oder patho-
logische Körperbestandteile oder Fremdkörper gerichtete Antikörper-
fragmente verwendet werden.

4

1814134

Dr. med. Karl Th urer
7 S t u t t g a r t
Frauenkopfstraße 49

10. Dezember 1968

Zusatzverfahren zur Herstellung von
Arzneimitteln mit selektivem Tropismus
nach Patent (-Anmeldung T 33 356/IV a/30 h

Das vorliegende Verfahren ist eine Erweiterung des Verfahrens nach Patent (-Anmeldung T 33 356/IV a/30 h), das zur Herstellung von Arzneimitteln mit selektivem Tropismus gegen Krebszellen und/oder bestimmte Organe dient, wobei an die nach bekannten immunologischen, chemischen bzw. fermentchemischen Verfahren gewonnenen Antikörperfragmente mit erhaltenem Tropismus zu den jeweiligen Gewebs- bzw. Zellantigenen nach ebenfalls bekannten Verfahren pharmakologisch oder als radioaktive Markierung wirkende Moleküle chemisch und/oder adsorptiv angekoppelt werden. Die Erweiterung besteht darin, daß zytotrope, gegen mobile Zellen und deren molekulare Bestandteile aus Geweben oder Körperflüssigkeiten oder auch gegen interstitiell oder humorale physiologische oder pathologische Körperbestandteile oder körperfremde Stoffe, insbesondere Infektionserreger, gerichtet Antikörperfragmente als Schlepperstoffe verwendet werden.

Unter mobilen Zellen aus Geweben sind dabei z. B. zu verstehen leukozytäre oder lymphozytäre Zellen, Makrophagen, Fibrozyten, Histiozyten u.a., unter denen aus Körperflüssigkeit die lymphozytären Zellen, wie z.B. Lymphozyten, Plasmazellen, dann die verschiedenen Leukozytären Zellen, Monozyten, Makrophagen, Thrombozyten, Erythrozyten u.a., die im Blut, im Lymphsystem, im Liquor cerebro-spinalis, der Augenflüssigkeit, in Exsudaten und Transsudaten sowie in Blasen der Haut, im Wundsekret oder im Urin enthalten sind.

Unter physiologischen, interstitiellen Körperbestandteilen ist z.B. zu verstehen Kollagen- und andere Intrazellulärsubstanzen, unter pathologischen Körperbestandteilen beispielweise Fibrin, Hyalin, Fibrinoid, Amyloid, nekrotisches bzw. verkrüppeltes Granulationsgewebe u.a. Unter Infektionserregern und körperfremden Stoffen sind beispielsweise Mikroorganismen, Viren, Parasiten, Allergene und andere Fremdkörper zu verstehen.

Unter physiologischen humoralen Körperbestandteilen sind zu verstehen z. B. Fibrinogen, Albumin, die verschiedenen Arten von Globulinen, Komplemente, Fermente u.a.

Unter pathologischen humoralen Bestandteilen der Körperflüssigkeiten sind abwägig gebildete oder pathologisch auftretende molekulare Bestandteile zu verstehen.

Es hat sich gezeigt, daß das Verfahren, Antikörper als Vehikel für Pharmaka oder für Tracersubstanzen zu verwenden, auf vielen Gebieten der Therapie und Diagnostik verwendbar ist und dabei gegenüber der Verwendung von nativen Antikörpermolekülen große Vorteile bestehen. Diese beruhen größtenteils auf der kleineren Molekülgröße, die eine geringere Antigenität bedingt und die Permeabilität durch das interstitielle Gewebe sowie die Penetration in Zellen begünstigt.

Die Methoden zur Gewinnung der jeweiligen Antikörper und der daraus herzustellenden Fragmente mit erhaltenem Tropismus zum Antigen sind bekannt, ebenso die Methoden für die chemische Ankopplung der Wirkstoffe. Letztere entsprechen den Methoden zur Herstellung konjugierter Antigene (vergl. H. Schmidt: Fortschritte der Serologie: Dietrich Steinkopf-Verlag, Darmstadt; Kobat und Mayer (1948) Experimental Immunochemistry: S. 142, Springfield/Illinois; Wolf und Vasquez: The Lancet No. 7522, S. 905-909, Vol. II) sowie den Methoden zur Markierung nativer Antikörper (vergl. H. von Mayersbach: Immunfluoreszenz: Das ärztliche Laboratorium, 13: 317-331 (1967)). Die Isolierung bzw. Reinigung der Kopplungsprodukte ist ebenfalls allgemein bekannt. Es wurden jedoch bisher die Körperbruchstücke nicht in der beschriebenen Weise verwendet.

Beispiel 1

Es soll ein Präparat zur Immunsuppression auf der Basis des Anti-lymphozytenserums hergestellt werden. Dazu werden gereinigte Anti-lymphozyten-Antikörper nach der Mercaptoethanol-Methode in L- und H-Ketten gespalten und über Jodacetamid, 6-Methylprednisolon angekoppelt. Nach ausgiebiger Dialyse gegen physiologische Kochsalzlösung erfolgt in erneuter Zusatz von 6-Methylprednisolon zur Stabilisierung des Konjugates. Es ist möglich, vor oder nach der

Konjugate der Antikörperbruchstücke mit 6-Methylprednisolon durch Säulenchromatographie, Gelfiltration oder Elektrophorese die L- und H-Ketten zu trennen und separat weiter aufzuarbeiten bzw. zu verwenden.

Die Ankopplung kann auch durch Bisdiazobenzidin erfolgen. Anstatt dem Corticoid kann Puryl-6-Histamin oder auch eine geeignete zytotoxische oder -lytische Substanz angekoppelt werden.

Die Aufspaltung in trope Antikörperfragmente kann auch fermentativ z. B. durch Papain erfolgen, wonach zunächst die FAB-Fragmente durch Säulenchromatographie getrennt und an diese dann der Wirkstoff angekoppelt wird.

Beispiel 2

Es soll ein Präparat zur szintigraphischen Diagnostik von Fibrinablagerungen in Tumoren hergestellt werden. Nach dem Verfahren von Dudley, Tee und Watkins (zit. nach Med.Tribune No. 6/9 vom Feb.1968, S. 2) wird gegen menschliches Fibrin von der Ratte ein Antikörperserum gewonnen und im Gegensatz zu diesem Verfahren nicht die Immunglobuline, sondern die daraus gewonnenen FAB-Fragmente mit dem radioaktiven Jodisotop J^{125} markiert.

Beispiel 3

Es soll ein Präparat zur Fibrinolyse hergestellt werden. Dabei geht man von gereinigten Antifibrinimmunglobulinen aus. Diese werden nach bekannten immunologischen Methoden gewonnen und isoliert, dann durch Papain in FAB- und FC-Fragmente aufgespalten. Der Grad der Fragmentierung wird durch immunologische Methoden unter Verwendung eines Anti-FAB- oder -FC-Antikörperserums verfolgt und bei Erreichen des optimalen Grades der Aufspaltung das FAB-Fragment isoliert. Gleichzeitig wird Papain an Bisdiazobenzidin gekoppelt und dieses Konjugat überschüssig mit der Lösung der FAB-Fragmente inkubiert.

Die Diazotierung kann aber auch durch Zusatz von Bisdiazobenzidin zu dem Gemisch aus Papain und dem bisdiazobenzidin Antikörperfragment erfolgen, wobei dann die zur proteolytischen Aufspaltung der Antikörper verwendete Papain an die Antikörperbruchstücke gebunden wird.

Die Isolierung der konjugierten FAB-Fragmente erfolgt durch Chromatographie oder Elektrophorese. Die fibrinolytische Wirkung des Präparates kann in vitro getestet werden.

Beispiel 4

Gegen den Rheumafaktor (Antiglobulin) soll ein proteolytisches Präparat gewonnen werden. Zunächst wird gegen den Rheumafaktor ein heterologes Antikörperglobulin hergestellt und dieses adsorptiv gereinigt. Danach erfolgt wie im Beispiel 3 die fermentative Aufspaltung in FAB- und FC-Fragmente mittels Papain. Durch Diazotierung wird nun Trypsin an das FAB-Fragment angekoppelt und durch Gelfiltration das konjugierte FAB-Fragment angereichert.

Beispiel 5

Ein bestimmtes, fehlendes Ferment soll in einer bestimmten Zellart substituiert werden. Dazu werden gereinigte cytotrope Antikörper reaktiv chemisch fragmentiert und an die Bruchstücke das gewünschte Ferment durch Isothiocyanat angekoppelt. Die Ankopplung des Enzyms kann auch nach reversibler Fermenthemmung durch einen Inhibitor erfolgen. Desgleichen kann auch das Konjugat des FAB-Fragments mit dem aktiven Ferment inhibiert werden. Bei Verwendung von heterologen Antikörperfragmenten als Schlepper kann dann gegen die verwendeten FAB-Fragmente des Schleppers ein anderes heterologes Antiglobulin ggf. von der zu behandelnden Species gewonnen werden, wobei man daraus die tropen Fragmente als Vehikel für die geeignete Aktivierungssubstanz des Enzyms benutzt. Die Behandlung erfolgt hier zweizeitig. Zunächst wird mit dem ^{un}aktivierten tropen Fermentpräparat behandelt, das dann in einem nachfolgenden zweiten Behandlungsschritt aktiviert wird.